

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren:
Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**GLYKOGENGEHALT UND
GLYKOGENSYNTHESE DER LEBER BEI DER
EXPERIMENTELLEN INTRAHEPATISCHEN
CHOLESTASE DER RATTE.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Jürgen Homann
aus Minden

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545904_0019

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren:
Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**GLYKOGENGEHALT UND
GLYKOGENSYNTHESE DER LEBER BEI DER
EXPERIMENTELLEN INTRAHEPATISCHEN
CHOLESTASE DER RATTE.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Jürgen Homann
aus Minden

Gießen 1970



Dekan: Prof. Dr. E. R. Habermann

Referent: Prof. Dr. H. A. Kühn

Korreferent: Prof. Dr. G. Gundlach

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG Seite 1

MATERIAL Seite 4

METHODEN Seite 6

ERGEBNISSE Seite 13

DISKUSSION Seite 36

ZUSAMMENFASSUNG Seite 42

LITERATURVERZEICHNIS

LEBENS LAUF

EINLEITUNG

Mitte des 19. Jahrhunderts wurde von Claude BERNARD das Glykogen als Reservezucker der Leber beschrieben (5,6); und seit EPPINGER ist bekannt, daß die erkrankte Leber weniger Glykogen enthält als die gesunde (11). Auf dieser Beobachtung beruht die noch heute häufig geübte Zuckertherapie - z.B. mit Laevulose beim Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen. In der Folgezeit sind zahlreiche Arbeiten erschienen, die sich mit Untersuchungen des Leberglykogengehalts und seiner Mobilisation sowohl aus der tierischen als auch aus der menschlichen Leber befaßt haben (3,4,12, 16,31,36).

Auch bei experimentell ausgelösten Lebererkrankungen der Ratte läßt sich eine deutliche Glykogenabnahme in der Leber nachweisen, was auf eine verminderte Glykogensynthese in der Leber zurückgeführt wurde (19). Neben dem Glykogenabfall lassen sich aber in Leberpunkta-ten von Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen als auch in Leberschnitten von Tieren mit experimentellen Lebererkrankungen deutlich gesteigerte Syntheseleistungen für

Cholesterin, Nukleinsäuren, NAD und Protein nachweisen (13,14,22,28,29,30,40).

Es ist daher zu fragen, ob sich der Glykogenabfall nicht besser durch einen erhöhten Energieverbrauch und damit einen gesteigerten Glykogenabbau erklären läßt, da für gesteigerte Syntheseleistungen mehr Energie als unter normalen Bedingungen aufgewendet werden muß.

Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit an dem Modell der experimentellen Cholestase der Ratte - hervorgerufen durch 1-Naphthylisothiocyanat und ergänzend an dem Modell der experimentellen Hepatitis, hervorgerufen durch Galaktosamin - untersucht, ob sich bei diesen Erkrankungen ein Glykogenabfall in der Leber regelmäßig nachweisen läßt, und ob sich ein Anhalt dafür gewinnen läßt, daß die Glykogensynthese unter diesen Umständen eingeschränkt ist.

Erläuterungen der in dieser Arbeit verwandten

Abkürzungen:

AP : Alkalische Phosphatase
ANIT¹ : 1-Naphthylisothiocyanat
ATP : Adenosintriphosphat
DNS : Desoxyribonukleinsäure
EK : Endkonzentration
GPT : Glutamat-Pyruvat-Transaminase
IpM : Impulse pro Minute
LAP : Leucin-Amino-Peptidase
HW : Mittelwert
NAD : Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid
POPOP : 1,4-bis(2(4-Methyl-5-Phenyloxazolyl) Benzol
PPO : 2,5 Diphenyloxazol
RNS : Ribonukleinsäure
UpM : Umdrehungen pro Minute

MATERIAL

1. Versuchstiere:

Als Versuchstiere wurden männliche Albino-ratten vom Stamm FW-49, mit einem Gewicht von 200-250 g, von der Firma Karl Thomae GmbH in Biberach a.d. Riss, bezogen.

2. Radioaktive Substanzen:

Die Firma Buchler & Co, Braunschweig, lieferte ^{14}C -I-Glukose (s.A. 3 mC/mMol) und ^{14}C -VI-Glukose (s.A. 2,4 mC/mMol).

3. Angewandte Medikamente bzw. Substanzen:

- a) ANIT (1-Naphthylisothiocyanat) wurde von der EGA-Chemie KG Steinheim bezogen.
- b) Cycloheximid (Actidion ^R) lieferte das Serva Entwicklungslabor Heidelberg.
- c) Luminal (Phenyläthylbarbitursäure) stammte von der Firma Merck, Darmstadt.
- d) Orotsäurefutter 1%ig: lieferte die Altromin GmbH in Lage.
- e) D-Galaktosamin-hydrochlorid wurde von der Firma Fluka AG Buchs/Schweiz bezogen.

4. Die Testansätze stammen von der Firma C.F.

Boehringer & Söhne, Mannheim:

Glukose: Testansatz Nr. TC-X-I 15994 TGAA

Glycerin und Neutralfett: Testansatz Nr. TC-GL

15989 TNAA

5. Scintillatorsubstanzen:

Die Scintillatorsubstanzen wurden von der Firma
Packard Instruments/Frankfurt bezogen.

METHODEN

1. Tierversuche und Futter:

- a) Die Versuchstiere wurden in Makrolon-Käfigen der Firma Altromin gehalten. Als Futter diente eine Altromin-Standard-Diät und Leitungswasser ad libitum.
- b) 1 %iges Orotsäurefutter: Zur Erzeugung einer Fettleber wurde der sonst üblichen Standard-Diät Orotsäure (1%) zugefügt.
- c) ANIT (1-Naphthylisothiocyanat): Alle Tiere erhielten morgens ca. 48 Stunden vor dem Töten eine einmalige Gabe von 100 mg/kg Körpergewicht ANIT per Schlundsonde, gelöst in 1 ml reinem Olivenöl.
- d) Orotsäure und ANIT: Nach neuntägiger Verfütterung von Orotsäure erhielten die Versuchstiere dieses Kollektivs 100 mg/kg ANIT zu den bereits erwähnten Bedingungen und wurden 48 Stunden später getötet.
- e) Luminal: Die Tiere dieser Gruppe bekamen 5 Tage lang im Abstand von 24 Stunden 50 mg/kg Luminal intraperitoneal appliziert.
- f) Luminal und ANIT: Die Versuchstiere erhielten 5 Tage lang im Abstand von 24 Stunden 50mg/kg Luminal intraperitoneal gespritzt, zusätz-

lich wurde ihnen 100 mg/kg ANIT 48 Stunden vor dem Tode per Schlund-Sonde verabreicht.

- g) ANIT und Cycloheximid: Diese Tiere bekamen 3 Tage lang im Abstand von 24 Stunden 0,8 mg/kg Cycloheximid intraperitoneal appliziert. 48 Stunden vor dem Tode wurde zusätzlich 100 mg/kg ANIT per os gegeben.
- h) Die Kontrollen erhielten die Altromin-Standard-Diät und die Lösungsmittel.
- i) Eine Galaktosaminhepatitis wurde - wenn nicht anders angegeben - durch i.p. Injektion von 1 g/kg Galaktosamin-hydrochlorid erzeugt.

2. Herstellen der Leberschnitten:

Die Versuchstiere wurden mit Diäthyläther narkotisiert und dann getötet. Sodann wurde der rechte Leberlappen herausgenommen und in eiskalte physiologische NaCl-Lösung gelegt. Die Lebern, die zur Glykogengehaltsbestimmung dienten, wurden mit flüssiger Luft tiefgefroren und bei -18°C aufbewahrt.

Mit einer Rasierklinge wurden hauchdünne Leberschnitten angefertigt und je ca. 200 mg Lebergewebe in Warburggefäße eingewogen.

3. Inkubation:

Danach wurden 6,1 ml des eiskalten Inkubationsgemisches in die Warburggefäße einpipettiert, ebenso je Gefäß ein mit 10 n NaOH angefeuchtetes Filterpapier in den Einsatz gegeben. Die Warburggefäße wurden im Warburgschüttelautomat bei $+37^{\circ}\text{C}$ mit geöffneten Hähnen 5 Minuten vorinkubiert. Anschließend wurde unter vorsichtigem, 3maligem Hin- und Rückkippen des Gefäßes radioaktive Glukose aus der Birne in den Hauptraum zum übrigen Inkubationsansatz gekippt. Nach Verschuß der Hähne wurden die Warburggefäße 60 Minuten lang bei $+37^{\circ}\text{C}$ mild geschüttelt.

a) Zur Messung der $^{14}\text{CO}_2$ Freisetzung wurde ein Toluol-Athanol-Scintillator verwandt, bestehend aus:

800 ml Toluol

400 ml Äthanol

4,8 g PPO

0,12g POPOP

Das Filterpapier wurde in Zählfläschchen überführt, 10 ml des obigen Scintillators hinzugegeben und gezählt (s.u.).

b) Für die Glykogensynthesemessung wurde ein

Thix-Gel-Scintillator bestehend aus:

1800 ml Dioxan

200 ml Athanol

252 g Naphthalin

115 g Cab-O-Sil

14 g PPO

300 mg POPOP

verwendet. - Es wurden 0,2 ml des radioaktiv markierten Hydrolysats mit 10 ml Thix-Gel-Scintillator vermischt und gezählt.

c) Die Messung der Radioaktivität erfolgte in dem Tri-Carb-Liquid-Scintillation-Counter, Modell Nr. 3 375 der Firma Packard, Frankfurt. Alle Messungen wurden im Balance-Point (maximale Zählausbeute) durchgeführt.

4. Inkubationsansatz:

Der Inkubationsansatz bestand aus:

5,5 ml Krebs-Ringer-Phosphatpuffer pH 7,4

0,4 ml ^{14}C -I-Glukose (g.A. 5 $\mu\text{C}/\text{ml}$; s.A.

3 mC/mMol) in der Birne

0,6 ml Glukose ($\text{EK } 6 \times 10^{-4} \text{ M}$)

1 Filterpapier (1,5 x 3,0 cm), mehrmals gefaltet und mit 0,04 ml 10 n NaOH getränkt im Einsatz.

5. Radioaktivitätsmessung:

Nach erfolgter Inkubation wurden die Filterpapiere in den Einsätzen, mit denen das von den Leberschnitten freigesetzte CO_2 aufgefangen worden war, in Zählgläschen überführt und ihre Radioaktivität mitnacheinander aufgeführtem Scintillator im Packard gemessen.

Nach der Messung wurde die $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung als IpM/CO_2 definiert und auf $\text{g}/\text{Leberfeuchtgewicht}$ umgerechnet. Gleichzeitig wurden die inkubierten Leberschnitten in eiskalter, physiologischer NaCl -Lösung gewaschen und anschließend mit 1 ml 20%iger NaOH hydrolysiert. Nach erfolgter Hydrolyse wurde das Glykogen mit Athanol abs. gefällt, abzentrifugiert, mit Athanol gewaschen und nochmals mit der gleichen Prozedur umgefällt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie unter 6 beschrieben, wobei im Schwefelsäurehydrolysat die Radioaktivität, als auch der Glukosegehalt bestimmt wurden. Die Messergebnisse wurden als $\text{IpM}/\text{Glykogen}/\text{g Leberfeuchtgewicht}$ angegeben.

6. Bestimmung des Leberglykogengehalts:

(modifiziert nach VERZAR und WENNER)

Es wurden ca. 200 mg Leberschnitten abgewogen

und in 1 ml 20-facher NaOH 10-15 Minuten im siedenden Wasserbad hydrolysiert. Das Glykogen wurde dann aus der heißen Lösung mit 2 ml abs. Alkohol gefällt, und die Fällung durch 30 minütiges Stehen im Eiswasser vervollständigt. Nach dem Zentrifugieren (10 Minuten/4000 UpH) wird die überstehende Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag erneut mit 2 ml abs. Alkohol gewaschen und in einem Wasserbad getrocknet. Anschließend wird mit 0,5 ml 2 n H_2SO_4 90 Minuten bei $+100^{\circ}C$ hydrolysiert. Dem Hydrolysat gibt man danach 0,5 ml 2 n Na_2CO_3 -Lösung hinzu. Dem Glykogengehalt entsprechend werden die Proben dann mit 5-20 ml H_2O (aqua dest.) verdünnt.

Die Glukose wurde dann im kinetischen Test bestimmt. Für die Messung der Proben wurde ein Photometer der Firma Eppendorf benutzt.

7. Neutralfettgehalt:

Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an methodische Angaben von BOEHRINGER, EGGSTEIN(9) und THALER et al. (35). Auf 1 g Lebergewebe wurden 50 ml eines Methanol-Chloroformgemisches (1:2) gegeben und mit einem Ultraturrax 6 x 10 Sekunden

homogenisiert.

Das Homogenat wurde 24 Stunden stehen gelassen und dann filtriert. Von dem klaren Filtrat wurden 10 ml mit 2 ml einer 0,04 %igen CaCl_2 -Lösung versetzt. Nach weiteren 24 Stunden wurde der wässrige Überstand abgesaugt und verworfen. 1 ml des Lipidextraktes wurde mit 2 ml einer äthanolischen KOH (0,5 n) 30 Minuten bei $+70^\circ \text{C}$ erhitzt, danach wurde 0,5 ml einer 20 %igen Perchlorsäure dazugegeben. Nach 10 Minuten Abkühlung im Eisbad wurde zentrifugiert (10 Minuten /4000 UpM), der Überstand in ein Gläschen übertragen und mit 10 n NaOH neutralisiert. 0,1 ml der neutralisierten Lösung wurde in den optischen Test eingesetzt. Der Neutralfettgehalt wurde im kinetischen Test mit den angegebenen Testansätzen gemessen. Für die Messung wurde ein Photometer der Firma Eppendorf benutzt.

Auf eine Bestimmung des freien Glycerins wird verzichtet, da vorherige methodische Untersuchungen (13) gezeigt hatten, daß sich in dem so gewonnenen Lipidextrakt keine meßbaren Mengen freien Glycerins befanden.

8. Die Signifikanzen wurden nach dem t-Test berechnet.

9. Histologische Untersuchungen:

Das Anfertigen und Färben der histologischen Präparate erfolgte im histologischen Labor der Medizinischen Universitäts-Klinik, Gießen. Für die Beurteilung der Präparate bin ich Herrn Dr. B. Leinweber zu großem Dank verpflichtet.

METHODISCHE ERGEBNISSE

Zunächst wurde geprüft, ob die in Aussicht genommene Methode nach VERZAR und WENNER (38) unter den beschriebenen Bedingungen in dem für die Versuche notwendigen Bereich eine Linearität zur eingesetzten Glykogenmenge ergeben.

Deshalb wurden Mengen zwischen 10-50 mg Glykogen in 2 n NaOH gekocht und anschließend, wie beschrieben, weiter verarbeitet. Aliquots der so bestimmten Proben wurden zur Glukosebestimmung verwandt.

Abbildung 1 zeigt, daß in dem Bereich der eingesetzten Glykogenmengen bei vollständiger Aufarbeitung Linearität zur eingesetzten Glykogenmenge besteht.

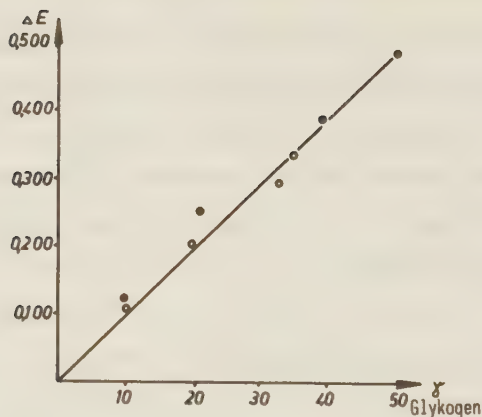


Abb. 1 Extinktionsdifferenzen bei der Glykogenbestimmung nach der Methode von VERGAR und MENDEL in Abhängigkeit zur eingesetzten Glykogenmenge.

Weiterhin wurde durch Nachrechnen geprüft, wieviel Prozent der eingesetzten Glykogenmenge wiedergefunden wurde. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, werden im Mittel 75,30 % des eingesetzten Glykogens nachgewiesen. Da in der vorliegenden Arbeit der relative Glykogengehalt in der Leber gruppenweise verglichen wurde, wurde die Ausbeute nicht auf 100 % umgerechnet.

mg eingesetzt	Glykogengehalt	
	mg wiedergefunden	wiedergefunden in %
10,2	8,5	83,3
20,1	15,3	76,1
35	25,5	72,9
33	22,3	67,6
9,9	9,5	96
21,1	19,2	91
39,7	29,2	73,6
50	35,5	71

Tab.1 Wiederfinden der eingesetzten Glyko-
genmenge nach vollständiger Durchführung der
Methodik zur Bestimmung des Glykogengehaltes
nach VERZAR und WENNER.

In weiteren methodischen Versuchen wurde geprüft, inwieweit nach Inkubation von Leberschnitten

1. die $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung (siehe Tabelle 2)
 2. der Einbau von ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen (siehe Tabelle 3)
 3. der Glykogengehalt (siehe Tabelle 4)
- sich als reproduzierbar erwiesen. Deshalb wurden je 3 Proben aus derselben Leber simultan untersucht. Wie die Tabellen 2-4 zeigen, sind die Ergebnisse zur Bestimmung der einzelnen Parameter gut reproduzierbar.

Probe	$\frac{\text{IpM} - \text{CO}_2}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
1	11726
2	11025
3	10023

Tab.2 $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung in vitro nach Inkubation von Rattenleberschnitten mit ^{14}C -Glukose. Es wurden 3 Proben aus der gleichen Leber simultan untersucht.

Probe	<u>IpM - Glykogen</u> g Leberfeuchtg.
1	2096
2	2035
3	1724

Tab.3 Einbau von ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen in vitro nach Inkubation von Rattenleberschnitten mit ^{14}C -Glukose. Es wurden 3 Gewebeproben aus der gleichen Leber simultan untersucht.

Probe	mgGlykogen / g Leberfeuchtg. nach Inkubation von 1 Stunde
1	0,78
2	0,76
3	0,74

Tab.4 Glykogengehalt von Rattenleberschnitten nach einstündiger Inkubation mit ^{14}C -Glukose in vitro. Es wurden 3 Gewebeproben aus der gleichen Leber simultan untersucht.

In einem weiteren methodischen Versuch wurde gemessen, ob der Glykogengehalt eines Leberlappens für die Gesamtleber repräsentativ ist. Wie Tabelle 5 zeigt, sind die Glykogengehalte in den einzelnen Leberlappen unter den gewählten Versuchsbedingungen praktisch gleich.

Untersuchungs - bedingungen	n	mg Glykogen/g Leberfeuchtg.		
		re.Lappen	mittl.Lappen	li.Lappen
a) Kontrolle	4	32,1 ± 8,2	32,8 ± 16	27,5 ± 7,6
b) ANIT	7	9,7 ± 6	6,6 ± 4,4	7 ± 5,5
c) Orotsäure +ANIT	7	5,2 ± 2,2	8,1 ± 3,3	6 ± 2
d) Orotsäure	4	46,3 ± 7	46,5 ± 6,7	37,6 ± 10

Tab.5 Glykogengehalt in verschiedenen Leberlappen der Ratte unter unterschiedlichen Versuchsbedingungen:

- a) Kontrollen
- b) 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT oral
- c) 9 Tage nach 1 % Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT oral
- d) 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter

Für die weiteren Versuche wurden nur noch Proben aus dem rechten Leberlappen zur Glykogenbestimmung verwandt.

Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, wurde als Modell einer Leberschädigung die ANIT-Cholestase der Ratte ausgewählt (10,13,14, 18, 20,22,25,28,29,30,40). Ergänzende Untersuchungen wurden an der Galaktosaminhepatitis der Ratte durchgeführt. Bereits 24 Stunden nach einmaliger Dosis von 100mg/kg ANIT oral kommt es bei der Ratte zu einem deutlichen, cholestatischen Ikterus, der durch einen gut reproduzierbaren Bilirubinanstieg im Serum, mäßig erhöhte Transaminasen und deutlich erhöhten Anstieg der A.P., SLAP und des Serumcholesteringehaltes gekennzeichnet ist. Diese experimentelle Erkrankung der Rattenleber wird durch eine toxische, nekrotisierende Cholangitis mit einzelnen, fleckförmigen Nekrosen im Leberparenchym hervorgerufen.

Die Intensität der Leberveränderungen steigert sich bis 72 Stunden nach der oralen Gabe von ANIT und klingt dann allmählich wieder ab. Alle Versuchstiere haben diese Dosis unter diesen ausgewählten Versuchsbedingungen überlebt (14,28).

Untersuchungs- bedingungen	n	<u>mg Glykogen</u> g Leberfeuchtg.
Kontrolle	34	32,3 $\pm$ 14
ANIT	33	6,0 $\pm$ 4,8
p	—	< 0,0005

Tab.6 Glykogengehalt in der Rattenleber 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Wie sich aus Tabelle 6 ersehen läßt, ist 48 Stunden nach oraler Verabreichung von 100mg/kg ANIT der Leberglykogengehalt im Mittel auf 20 % der Kontrollen abgesunken. Für dieses Absinken des Leberglykogengehaltes dürfte kaum eine verminderte Glykogensynthese in der Leber verantwortlich zu machen sein, da wie aus Tabelle 7 hervorgeht, der Einbau radioaktiver Glukose in das Leberglykogen in vitro erhöht ist. Da diese Versuche in vitro bei einem Glukosegehalt des Inkubationsmediums von

Untersuchungs- bedingungen	n	IpM - Glykogen g Leberfeuchtg.
Kontrolle	27	1697 $\pm$ 788
ANIT	30	2810 $\pm$ 1062
p		< 0,0005

Tab.7 Einbau von ^{14}C -I-Glukose in vitro in das Glykogen von Rattenleberschnitten 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT per os im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

6×10^{-4} M durchgeführt wurden und eine Aequilibrierung des Glukosegehaltes der Leber mit dem des Mediums stattgefunden haben dürfte, kann für diesen Befund kaum ein unterschiedlich großer Glukosepool in der Rattenleber verantwortlich sein. Das wird dadurch bestätigt, daß die $^{14}\text{CO}_2$ Abgabe - d.h. die Oxydation der eingesetzten Glukose zu CO_2 unter beiden Versuchsbedingungen - gleich ist. (s.Tab.8). Die spezifische Aktivität des Glykogens (IpM-Glykogen/mg Glykogen) ist bei ANIT gegenüber Kontrollen um ca. das 13-fache erhöht.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{IpM} - \text{CO}_2}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	27	14096 ± 4560
ANIT	22	13591 ± 5675

Tab.8 Freisetzung von $^{14}\text{CO}_2$ nach Inkubation von Rattenleberschnitten in vitro mit ^{14}C -I-Glukose 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{mg Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	34	$32,3 \pm 14$
Orotsäure	28	$39,8 \pm 16,3$
p		$< 0,05$

Tab.9 Glykogengehalt der Rattenleber 9 Tage nach 1 % Orotsäurefutter gegenüber einem Kontrollkollektiv.

In weiteren Untersuchungen wurde geprüft, ob es möglich ist, den ANIT-bedingten Glykogenabfall durch gleichzeitige Verfütterung von Orotsäure zu verhindern.

Die Verfütterung von Orotsäure führt in wenigen Tagen zu einer ausgeprägten Fettleber der Ratte (13,32,33,39), die gleichzeitig durch einen hohen Glykogengehalt der Leber gekennzeichnet ist (s. Tab.9). Diese experimentelle Fettleber der Ratte weist bezüglich der Leberfunktionsproben keine Veränderungen auf: Serumbilirubin und Transaminasen sind normal, und die Tiere sind in ihrem Allgemeinbefinden nicht beeinträchtigt (13,14,22,29,39).

Untersuchungsbedingungen	n	<u>mg Glykogen</u> g Leberfeuchtg.
Kontrolle	34	$32,3 \pm 14$
Orotsäure + ANIT	28	$6,0 \pm 5,8$
p		$< 0,0005$

Tab.10 Glykogengehalt in Rattenleberschnitten 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT per os im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Wie Tabelle 10 zeigt, läßt sich der Glykogenabfall der Leber nach Gabe von ANIT auch durch zusätzliche Orotsäureverfütterung nicht verhindern.

Wie die Tabellen 11 und 12 zeigen, ist auch unter diesen Versuchsbedingungen der Einbau ^{14}C -markierter Glukose in das Leberglykogen nicht vermindert, sondern im Gegenteil sogar etwas erhöht, was gegen eine eingeschränkte, sondern eher für eine gesteigerte Glykogensynthese spricht.

Untersuchungsbedingungen	n	$\frac{\text{IpM} - \text{Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	28	1697 ± 788
Orotsäure + ANIT	17	2649 ± 1533
p		$< 0,0005$

Tab.11 Einbau von ^{14}C -I-Glukose in das Leberglykogen von Ratten in vitro 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach oraler Gabe von 100mg/kg ANIT gegenüber einem Kontrollkollektiv.

Auch unter diesen Versuchsbedingungen sind die veränderten Einbauraten kaum auf einen veränderten Glukosepool in der Leber zurückzuführen, da wiederum ein konstanter Glukosegehalt in den Inkubationsansätzen bestand, und wie Tabelle 13 zeigt, unter diesen Versuchsbedingungen die Glukoseoxydation als unverändert anzusehen ist.

Untersuchungsbedingungen	n	$\frac{\mu\text{M} - \text{Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Orotsäure + ANIT	17	2649 ± 1533
Orotsäure	18	2071 ± 605
p		$< 0,10$ gefun. $t=1,4665$ gefordert $1,6924$

Tab.12 $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung aus Rattenleberschnitten in vitro 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter, sowie 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT per os im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{IpM} - \text{CO}_2}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	27	14096 ± 4560
Orotsäure	18	14596 ± 2074
Orotsäure + ANIT	16	14135 ± 6515

Tab.13 Einbau von ^{14}C -I-Glukose in das Glykogen von Rattenleberschnitten in vitro 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT oral gegenüber einem Kollektiv, das 9 Tage 1% Orotsäurefutter erhielt.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{mg Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Orotsäure	28	$39,8 \pm 16,3$
Orotsäure + ANIT 6 h	2	$37,2 \pm 12,2$
Orotsäure + ANIT 12 h	2	$35,1 \pm 9,7$
Orotsäure + ANIT 24 h	3	$5,7 \pm 5,3$
Orotsäure + ANIT 48 h	28	$6,5 \pm 5,8$

Tab.14 Einfluß einer oralen Gabe von 100mg/kg ANIT auf den Leberglykogengehalt von Ratten nach 9tägiger Verfütterung von Orotsäure in Abhängigkeit zur Zeit.

Untersucht man die Zeitabhängigkeit des Glykogenabfalls unter dem Einfluß der sich entwickelnden ANIT-Cholestase, so geht aus Tabelle 14 hervor, daß offensichtlich zwischen 12 und 24 Stunden - also während der Zeit, in der sich die ersten klinischen Manifestationen zeigen - ein scharfer Glykogenabfall eintritt. Diese Phase der beginnenden ANIT-Cholestase ist gleichzeitig durch deutlich erhöhte Syntheseleistungen der Leber (Protein-, DNS-, RNS- und Cholesterinsynthese) gekennzeichnet (13,14,28, 30,40), sodaß als mögliche Erklärung für den scharfen Glykogenabfall ein erhöhter Energieverbrauch zu diskutieren wäre. Diese Möglichkeit wird noch dadurch gestützt, daß durch Orotsäureverfütterung vermehrt in der Leber eingelagertes Neutralfett gleichzeitig nahezu vollständig mobilisiert wird. Ein auffälliger Befund der bisherigen Untersuchungen ist der, daß der Glykogengehalt der Leber bei Ratten mit ANIT-Cholestase nicht wesentlich unter 6mg/g Leberfeuchtgewicht im Mittel sinkt. Somit besteht die Möglichkeit, daß aufgrund der durch ANIT gesetzten Leberschädigung der verbleibende Glykogenrest nicht mehr mobilisiert werden kann (s. Tab.15,16 und 17).

Untersuchungs- bedingungen	n	mg Neutralfett g Leberfeuchtg.
Kontrolle	9	34,3 ± 22,9
Orotsäure	10	180,1 ± 88,6
Orotsäure +ANIT	12	64,0 ± 14,8
P Orot.:Kon.		< 0,0005
P Orot.:Orot+AN.		< 0,0005

Tab.15 Neutralfettgehalt der Rattenleber 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter sowie 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Untersuchungs- bedingungen	n	<u>mg Glykogen</u> g Leberfeuchtg.
Kontrolle	34	32,3 ± 14
ANIT	33	6,0 ± 4,8
Orotsäure + ANIT	28	6,5 ± 5,8

Tab.16 Glykogengehalt in Rattenleberschnitten 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT per os, sowie 9 Tage nach 1% Orotsäurefutter und 48 Stunden nach 100mg/kg ANIT oral gegenüber einem Kontrollkollektiv.

Durch eine Luminalvorbehandlung, die ihrerseits selber unter den untersuchten Bedingungen zu einem Abfall des Glykogens in der Leber führt, wird die Aktivität der ANIT-Cholestase - ablesbar aus den Veränderungen der Leberfunktionsproben im Serum (14,15,29) - ganz erheblich gesteigert. Die Tiere sind deutlich schwerer erkrankt (14,29). Auch unter diesen Bedingungen, also bei wesentlich schwererer Leberschädigung, bleibt, wie Tabelle 17 zeigt, eine Restmenge Glykogen von 6 mg/g Leberfeuchtgewicht erhalten, obwohl unter diesen Bedingungen die bereits erwähnten Syntheseleistungen wesentlich mehr gesteigert sind als bei reiner ANIT-Cholestase. Durch eine gleichzeitige Cycloheximidbehandlung (Actidion^R) wird der Anstieg der Proteinsynthese in der Leber nahezu vollständig verhindert, und die Entwicklung der ANIT-Cholestase wird fast gänzlich unterdrückt (29). Sowohl aufgrund der Leberfunktionsproben, als auch des histologischen Bildes, verläuft die ANIT-Cholestase unter gleichzeitiger Cycloheximidgabe wesentlich leichter, die Leberschädigung ist nicht so stark ausgeprägt (14,29). Wie Tabelle 18 zeigt, kommt es unter diesen Versuchsbedingungen dennoch zu einem fast völligen Schwund des Leberglykogens aus den Zellen, was möglicherweise dafür

spricht, daß bei dieser insgesamt geringeren Schädigung die glykogenabbauenden Enzyme erhalten bleiben.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{mg Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	34	$32,3 \pm 14$
Luminal	9	$12,8 \pm 5,6$
Luminal + ANIT	9	$6,0 \pm 2,7$
p Kon. : Lum.		$< 0,0005$
p Kon. : Lum+AN.		$< 0,0005$

Tab.17 Glykogengehalt der Rattenleber nach 5tägiger Luminal-Applikation (50mg/kg) sowie nach 5tägiger Luminal-Applikation und 48 Stunden nach oraler Verabreichung von 100mg/kg ANIT im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{\text{mg Glykogen}}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
Kontrolle	34	$32,3 \pm 14$
ANIT + Cycloheximid	8	$0,12 \pm 0,03$
p		$< 0,0005$

Tab.18 Einfluß einer zusätzlichen, 3tägigen Cycloheximid Behandlung (0,8 mg/kg täglich) auf den Glykogenabfall 48 Stunden nach 100 mg/kg ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

GALAKTOSAMINHEPATITIS

Erst seit relativ kurzer Zeit ist in der Leberforschung die experimentell erzeugte Galaktosaminhepatitis bekannt, die morphologisch und klinisch-chemisch der sogenannten menschlichen Virushepatitis ähnelt (19,23).

Morphologisch entstehen nach 24 Stunden lymphoplasmazelluläre und granulozytäre Infiltrationen der Periportalfelder, Gefäß- und Gallengangs-dilatation, Einzelzell- und Gruppennekrosen mit Councilman-bodies.

48 Stunden nach Applikation findet man ausgedehnte Parenchymnekrosen, nach 72 Stunden erkennt man eine deutliche Restitution, die nach 96 Stunden morphologisch dem Bild von Kontrollen entspricht.

Klinisch-chemisch ist ein erhöhter Bilirubin-gehalt, ein Anstieg der Transaminasen und der Glutamatdehydrogenase sowie eine Verminderung der Gerinnungsfaktoren nachweisbar. Auch bei dieser experimentellen Leberschädigung, die im Gegensatz zur ANIT-Intoxikation weniger eine Cholestase als vielmehr eine toxische Hepatitis auslöst, läßt sich ein erheblich verminderter Glykogengehalt der Leber nachweisen (19,21,23, 34). (s.Tab. 19)

Untersuchungs - bedingungen	n	Einbau von ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen [pM/g Leberfeuchtg.	Glykogengehalt in Leberschnitten in mg/g Leberfeuchtg.
^{14}C - I Glukose			
Kontrolle	4	2664 ± 862	$20,2 \pm 9$
Galaktosamin a)	7	5967 ± 2031	$1,7 \pm 1,5$
^{14}C - VI Glukose			
Kontrolle	2	1992 ± 681	$9,8 \pm 6,2$
Galaktosamin b)	4	4277 ± 232	$0,62 \pm 0,73$

Tab.19 Glykogengehalt und Einbau von ^{14}C -Glukose in das Glykogen in Leberschnitten von Ratten mit Galaktosaminhepatitis im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

- a) Die Versuchstiere erhielten 24 Stunden vor der Gewebsementnahme 1 g/kg Galaktosamin i.p.
b) Die Versuchstiere erhielten 2 Tage lang 3 x 50mg/kg Galaktosamin i.p. und wurden nach 24 Stunden getötet.

Wie bei der Glykogenverminderung in der Leber von Ratten mit ANIT-Cholestase ist aber auch unter diesen Versuchsbedingungen der Einbau von ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen, gemessen an Leberschnitten in vitro, nicht vermindert, sondern deutlich erhöht, was ebenfalls gegen eine

eingeschränkte, sondern eher für eine gesteigerte Glykogensynthese spricht.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu Ergebnissen von KEPPLER et al., der aufgrund des verminderten UDP-Glukosegehaltes und der verminderten Aktivität der UDP-Glukosepyrophosphorylase eher auf eine verminderte Glykogensynthese in der Rattenleber bei Galaktosaminhepatitis schließt. Aufgrund der hier erarbeiteten Befunde ist der Glykogenabfall aber u.E. nicht durch eine verminderte Glykogensynthese zu erklären. Allerdings wird unter diesen Untersuchungsbedingungen bei Inkubation von Rattenleberschnitten mit ^{14}C -markierter Glukose deutlich mehr $^{14}\text{CO}_2$ abgegeben (s.Tab. 20). Dieser Befund spräche entweder für eine stärkere Markierung des Glukosepools in den Leberschnitten von Tieren mit Galaktosaminhepatitis oder für einen gesteigerten Glukoseumsatz. Wie zu erwarten, ist die $^{14}\text{CO}_2$ -Abgabe bei Inkubation mit ^{14}C -I- markierter Glukose deutlich höher, da unter diesen Versuchsbedingungen der Glukoseumsatz im Pentosephosphatcyclus mit erfaßt wird (24).

Untersuchungs- bedingungen	n	$\frac{1\mu\text{M} - \text{CO}_2}{\text{g Leberfeuchtg.}}$
$^{14}\text{C-I}$ Glukose		
Kontrolle	4	9164 ± 3398
Galaktosamin a)	7	18982 ± 10976
$^{14}\text{C-VI}$ Glukose		
Kontrolle	2	3933 ± 742
Galaktosamin b)	7	5416 ± 2100

Tab.20 $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung aus $^{14}\text{C-I}$ - und $^{14}\text{C-VI}$ -markierter Glukose von Leberschnitten in vitro von Ratten mit Galaktosaminhepatitis im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

- a) Die Versuchstiere erhielten 24 Stunden vor der Gewebentnahme 1 g/kg Galaktosamin i.p.
- b) Die Versuchstiere erhielten 2 Tage lang 3x 50 mg/kg Galaktosamin i.p. und wurden nach 24 Stunden getötet.

DISKUSSION

Zu Beginn der Diskussion seien die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse kurz zusammengefaßt.

Es hat sich zeigen lassen, daß es während der Entwicklung der ANIT-Cholestase bei Ratten innerhalb von 12-24 Stunden nach Gabe von ANIT zu einem deutlichen Abfall des Glykogengehaltes der Leber kommt. Dieser Glykogenabfall läßt sich auch durch gleichzeitige Verfütterung von Orotsäure, die sonst zu einer glykogenreichen Fettleber führt, nicht verhindern. Die Einbaurrate für ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen ist unter diesen Bedingungen nicht vermindert, sondern im Gegenteil eher erhöht, was dafür spricht, daß der Glykogenabfall nicht durch eine erniedrigte Synthese, sondern durch einen verstärkten Abbau zustande kommt.

Gleichzeitig wird unter diesen Bedingungen das durch Orotsäureverfütterung in die Leberzelle eingebaute Neutralfett mobilisiert.

Unter einer Vorbehandlung mit Luminal, die zu einer stärker ausgeprägten ANIT-Cholestase führt (29), wird der Glykogenspiegel in den Leberzellen nicht weiter gesenkt. Eine alleinige Luminalbehandlung führt ebenfalls zu einem deutlichen

Absinken des Leberglykogengehaltes.

Durch eine gleichzeitige Cycloheximidbehandlung, durch die eine ANIT-Cholestase fast vollständig verhindert werden kann (14,29), wird der Leberglykogengehalt ausgiebiger gesenkt.

Bereits in der Einleitung ist ausgeführt worden, daß floride Lebererkrankungen des Menschen durch einen besonders niedrigen Glykogengehalt der Leber gekennzeichnet sind. In Analogie zu den hier aufgeführten Versuchen wäre die Möglichkeit zu diskutieren, daß in der menschlichen Leber nicht eine verminderte Glykogensynthese, sondern ein verstärkter Abbau stattfindet. Dafür spricht, daß ähnlich wie bei Lebern von Tieren mit ANIT-Cholestase auch bei menschlichen Lebererkrankungen deutlich erhöhte Syntheseleistungen (13,14,28,29,30,40) nachgewiesen werden können, sodaß auch unter diesen Bedingungen ein verstärkter Energieverbrauch in den Leberzellen vorhanden sein könnte.

Der gleichzeitig beobachtete Abfall des Neutralfettgehaltes bei der Orotsäurefettleber nach zusätzlicher Behandlung mit ANIT wäre mit dem Befund am Menschen vergleichbar, daß z.B. bei der akuten Hepatitis niemals eine Leberzellverfettung nachweisbar ist, und daß beim Übergang

einer alkoholischen Fettleber in eine chronische Hepatitis das Fett aus der Leber verschwindet.

Offensichtlich besteht aber bei der ANIT bedingten Leberzellschädigung in der späteren Phase zumindestens in einzelnen Zellen eine Abbauehemmung für das Leberglykogen, da auch bei der schwerer verlaufenden ANIT-Cholestase kein vollständiger Abbau des Leberglykogens erfolgt. Dies wird erst dann erreicht, wenn man versucht, die ANIT-Cholestase durch gleichzeitige Gabe eines Proteinsynthesehemmers nahezu zu unterdrücken (14,29). Ob in diesem Fall, in dem die Tiere weniger schwer erkrankt sind, die glykogenabbauenden Enzyme erhalten bleiben, kann vorerst nur als Möglichkeit diskutiert werden, da in der vorliegenden Arbeit keine Messung der Enzymaktivitäten vorgenommen wurde.

Dieser Befund, daß das Glykogen nicht vollständig abgebaut wird, wäre mit elektronenoptischen Befunden korrelierbar, die gezeigt haben, daß auch bei ausgeprägter Leberschädigung und generell vermindertem Glykogengehalt der Leber, einzelne Leberzellen übrig bleiben, die einen vermehrten Glykogengehalt aufweisen (8). BANNASCH hat kürzlich nachgewiesen, daß bei der Hepatom-

entwicklung in der Leber Zellen auftreten, die durch einen vermehrten Glykogengehalt gezeichnet sind, während im allgemeinen, bis auf eine Ausnahme, die Morris-Hepatome einen außerordentlich niedrigen Glykogengehalt aufweisen (2,26).

Die Ursache des bei Leberschädigungen zu beobachtenden verminderten Glykogengehaltes läßt sich durch die vorgelegten Untersuchungen nicht vollständig erklären, da der Glykogenabfall in einer Phase der Erkrankung eintritt, in der es zur Entwicklung deutlich gesteigerter Syntheseleistungen kommt (1,29), dürfte eine naheliegende Erklärung die sein, daß in dieser Phase vermehrt Energie benötigt wird. Es wäre also die durch Messen der Syntheseleistung feststellbare Funktionssteigerung mit dem Leberglykogenabfall zu korrelieren. Dabei sei auf frühere Untersuchungen FORSGREN's verwiesen, der gezeigt hat, daß bei Funktionssteigerungen der Leberzellen ihr Glykogengehalt abnimmt (12). Ähnliche Beobachtungen können bei Thrombozyten gemacht werden, bei denen bei Funktionssteigerungen (visköse Metamorphose) die Proteinsynthese ansteigt (7). Zu diesem Zeitpunkt kann ein deutliches Absinken des Glykogengehaltes und ein Anstieg des Sauerstoff- und Glukoseverbrauchs

nachgewiesen werden (37). Die ergänzend durchgeführten Untersuchungen zum Glykogengehalt und zur Glykogensynthese in Leberschnitten von Ratten mit Galaktosaminhepatitis haben ähnliche Ergebnisse wie bei den Tieren mit ANIT-Cholestase erbracht. Dieser Befund eines erniedrigten Glykogengehaltes der Leber bei der Galaktosaminhepatitis wird durch frühere Untersuchungen von KEPPLER et al. (19) bestätigt, wobei diese Autoren - wie bereits erwähnt - zur Erklärung für den Glykogenabfall eine verminderte Glykogensynthese in der Leber annahmen. Aus den hier vorgelegten Untersuchungen muß aber geschlossen werden, daß die Abnahme des Glykogengehaltes bei der Galaktosaminhepatitis durch einen verstärkten Glykogenabbau erfolgt. Zur endgültigen Klärung sind jedoch zusätzliche Untersuchungen über die Aktivität der glykogenabbauenden Enzyme erforderlich.

Da sich auch in Leberschnitten von Ratten mit Galaktosaminhepatitis ein verstärkter Einbau ^{14}C -markierter Aminosäuren in das Leberprotein *in vitro* findet, wäre auch in diesen Untersuchungen ähnlich wie bei den Tieren mit ANIT-Cholestase ein erhöhter Energieverbrauch aufgrund gesteigerter, energiefordernder Syntheseleistungen denkbar. Diese Interpretationen

der Versuchsergebnisse werden durch elektronenoptische Beobachtungen von BADER und COSSEL (1,8) gestützt, die nachgewiesen haben, daß eine starke Zunahme der Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums, wie sie sowohl bei der ANIT-Cholestase als auch bei der Galaktosaminhepatitis der Ratte beobachtet werden kann, immer mit einem Glykogenschwund in diesen Zellen einhergeht. Beide Autoren diskutieren in diesem Zusammenhang auch, daß das Glykogen bei der Ausbildung der Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums als Energiedonator zur Verfügung steht (1,8).

Dennoch läßt sich ein solcher Zusammenhang zwischen Glykogenschwund und gesteigerten Syntheseleistungen nicht als gesichert annehmen. Es wäre gleichfalls denkbar, daß es im Verlauf einer Lebererkrankung zu einer unspezifischen Aktivierung der glykogenabbauenden Enzyme kommt, so daß das Gleichgewicht zwischen Glykogensynthese und Glykogenabbau gestört und daraus letztlich eine Glykogenarmut der Leberzelle resultieren würde (27).

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden Untersuchungen zum Glykogenstoffwechsel der Leber bei der experimentellen Cholestase (ANIT) und der experimentellen Hepatitis (Galaktosamin) der Ratte durchgeführt.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

1. Sowohl bei der ANIT-Cholestase als auch bei der Galaktosaminhepatitis der Ratte ist der Leberglykogengehalt deutlich vermindert.
2. Unter diesen Untersuchungsbedingungen läßt sich ein erhöhter Einbau von ^{14}C -Glukose in das Leberglykogen nachweisen, was dafür spricht, daß die Glykogensynthese nicht vermindert ist.
3. Rattenleberschnitten von Tieren mit ANIT-Cholestase setzen bei Inkubation mit ^{14}C -Glukose gleichviel $^{14}\text{CO}_2$ frei wie die unbehandelten Kontrollen. In Rattenleberschnitten von Tieren mit Galaktosaminhepatitis wird vermehrt $^{14}\text{CO}_2$ aus ^{14}C -Glukose freigesetzt.
4. Der Glykogenabfall in der Leber von Ratten mit ANIT-Cholestase kann durch eine gleich-

zeitige Orotsäureverfütterung nicht unterdrückt werden.

Eine zusätzliche Phenobarbital-Behandlung, die das Ausmaß der durch ANIT hervorgerufenen Cholestase verstärkt, führt nicht zu einem stärkeren Glykogenabfall in der Leber.

Eine zusätzliche Actidion-Behandlung, welche die ANIT bedingte Cholestase abschwächt, führt dagegen zu einem stärkeren Glykogenabfall.

Die Ergebnisse werden diskutiert.

LITERATUR

1. BADER, G.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur funktionellen Morphologie der regenerierenden Leberzelle nach partieller Hepatektomie. Acta hepato-splen. Vol 16, No 5, 281 (1969)
2. BANNASCH, P.
Glykogenspeicherkrankheit und Geschwulstbildung der Leber. Fortschr.Med. 87, 409 (1969)
3. BAUMGÄRTEL, T.
Zur Genese und Therapie des parenchymatösen Ikterus. Med. Klin. (1947), 409
4. BERINGER, A.
Leberglykogen und Ketonkörper.
Wien. Zeit.inn.Med. 29, 27 (1948)
5. BERNARD, C. et C.L. BARRESWIL
De la presence du sucre dans le foie.
Compt.Rend.Acad.Sciences Paris 27, 14 (1848)
6. BERNARD, C.
Sur le mecanisme de la formation du sucre dans le foie.
Compt.Rend.Sciences Paris 41, 461-469
7. CONRADT, M.
Untersuchungen zur Ursache der Thrombopenie bei der experimentellen Galaktosaminhepatitis der Ratte.
Inaugural Dissertation, Gießen 1970, in Vorbereitung

8. COSSEL, L.
Die menschliche Leber im Elektronenmikroskop.
VEB Gustav Fischer Verlag (1964)
9. EGGSTEIN, H. und F.H. KREUTZ
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44, 262 (1966)
10. ELIAKIM, H., H. EISNER und H. UNGAR
Experimental intrahepatic obstructive jaundice following ingestion of 1-Naphthyl-iso-thiocyanate.
Bull. Res. Council Israel, 8, 7 (1959)
11. EPPINGER, H.
Die Leberkrankheiten
Springer Verlag, Wien (1937)
12. FORSGREN, E.
Mikroskopische Untersuchungen über die Gallenbildung in den Leberzellen.
Zschr. Zellforschung 6, 647-688 (1928)
13. FRICK, H.
Proteinsynthese und experimentelle Fettleber der Ratte.
Inaugural Dissertation, Gießen 1969, in Vorbereitung
14. GRUN, M.
Über den Einfluß der Proteinsynthese in der Leber auf die Entwicklung des cholestatischen Ikterus unter ANIT.
Inaugural Dissertation, Gießen 1969, in Vorbereitung.

15. HENDERSON, P.B., P.J. GARVIN and R.B. JENNINGS
Fine structural changes in rat liver induced
by phenobarbital.
Lab. Invest. 13, 1302 (1964)
16. HILDES, J.A., S. SHERLOCK and V. WALSH
Liver and muscle glycogen in normal subjects,
in diabetes mellitus, and acute hepatitis.
Clin. Sci. 7, 297 (1949)
17. IRSIGLER, K. und J. HRABAL
Zur Neutralfettbestimmung im Biopsiematerial
der menschlichen Leber.
Med. Wschr. 8, 432 (1968)
18. JAVITT, H.B. and J.M. ARIAS
Intrahepatic Cholestasis: A functional approach
to pathogenesis.
Gastroenterology 53, 171 (1967)
19. KEPLER, D., W. REUTTER, R. LESCH und K. DECKER
Untersuchungen zum Mechanismus der Galaktos-
amin-induzierten Hepatitis.
Verhandlungen der Deutschen Gesellsch. für In-
nere Medizin, 75. Bd. 1969, Verlag von J.F. Berg-
mann S. 361-363
20. KOHN, D.A. und E. RICHTER
Zur Pathophysiologie und zur Klinik der intra-
hepatischen Cholestase.
Med. Klin. 65, 1, (1970)
21. LAUN, A.
Klinisch-chemische, biochemische und histo-
logische Untersuchungen zur Galaktosaminhe-
patitis der Ratte.
Inaugural Dissertation, Gießen 1970, in Vor-
bereitung

22. LEINWEBER, B., E. RICHTER und H. A. KOHN
Histologische Befunde und Proteinsynthese der
Rattenleber bei ANIT-Cholestase.
Verhandlungen der Deutschen Gesellsch. für In-
nere Medizin, 75. Bd. 1969, Verlag von J. F. Berg-
mann S. 365-367 (1969)
23. LESCH, R., W. REUTTER, D. KEPPLER und K. DECKER
Das morphologische Bild der Galaktosaminschä-
digung der Rattenleber.
Verhandlungen der Deutschen Gesellsch. für In-
nere Medizin, 75. Bd. 1969, Verlag von J. F. Berg-
mann S. 358-361 (1969)
24. DONALD, B. Mc CORMICK and O. TOUSTER
The conversion in vivo of xylitol to glycogen
via the pentose phosphate pathway.
J. Biol. Chem. 229, 451 (1957)
25. POTTER, H. and F. SCHAFFNER
Pathology and Jaundice Resulting from Intrahe-
patic Cholestasis.
J. A. M. A. 162, 1447 (1959)
26. van POTTER, R.
Summary of Discussions on Neoplasia.
Cancer Research 28, 1908 (1968)
27. RALL, T. W., E. W. SUTHERLAND and W. D. WOSILAIT
The Relationship of Epinephrine and Glucagon
to Liver Phosphorylase.
III. Reactivation of Liver Phosphorylase in
Slices and in Extracts
J. Biol. Chem. 218, 483 (1956)

28. RICHTER, E., M. GRON und H. A. KOHN
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase der Ratte.
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 75. Bd. 1969, Verlag von J. F. Bergmann S. 367-369
29. RICHTER, E.
Syntheseleistungen normalen und pathologisch veränderten Lebergewebes in vitro.
Habil. Schrift zur Erlangung der venia legendi, Med. Fakultät der Univ. Gießen 1969
30. SCHNEIDER, M.
Untersuchungen zur Proteinsynthese bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase.
Inaugural Dissertation, Gießen 1969
31. SECKFORT, H. und J. WEISE
Über das Verhalten des Blutzuckerspiegels leberkranker Versuchspersonen nach intravenöser Cholingabe.
Klin. Wschr. 693, (1950)
32. SICKINGER, K., R. KATTERMANN und H. HANNEMANN
Zunahme von Lebergewicht und Leberglykogen unter Infusion von Cholinorotrat und Adenosin.
Acta Hepato-Splen. 14, 88 (1967)
33. STANDERER, S. B. and P. HANDLER
Fatty liver induced by orotic acid feeding.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 20, 270 (1955)
34. STARGARD, M.
Die Entwicklung der pathologischen Veränderungen in der Leber bei der Galaktosaminhepatitis

der Ratte in Abhängigkeit von Zeit und Dosierung
Inaugural Dissertation, Gießen 1970, in Vorbereitung

35. THALER, H., A. BERINGER, I. HRABAL und K. IRSIGLER
Der Einfluß von Tolbutamid auf die diabetische Fettleber

Dtsch. Med. Wschr. 52, 2388 (1967)

36. VANOTTI, A.

La fonction du foie du point de vue clinique
Schweiz. Med. Wschr. 229, (1947)

37. WEBER, E.

Die Beeinflussung biochemischer und morphologischer Merkmale von Blutplättchen durch gerinnungsfördernde und proteolytische Agentien
Habil. Schrift, Heidelberg (1965)

38. VERZAR und WENNER

Methode zur Glykogenbestimmung
Hoppe-Seyler-Thierfelder, III 1 (10. Auflage) S. 822

39. WINDMÜLLER, H. G. and R. J. LEVY

Total inhibition of hepatic β -lipoprotein production in rat by orotic acid
J. Biol. Chem. 242, 2246 (1967)

40. WINTER, E.

Untersuchungen zur Proteinsynthese der Leber bei der ANIT-Cholestase der Ratte
Inaugural Dissertation, Gießen 1969

LEBENS LAUF

Am 19. November 1945 wurde ich als 2. Kind des technischen Bundesbahnoberamtsrates Karl Homann und seiner Ehefrau Gerda geb. Beuermann in Salzgitter-Ringelheim geboren.

1951 verzogen wir nach Minden/Westf., wo ich 1952 eingeschult wurde. 1956 wechselte ich auf das staatliche Besselgymnasium, wo ich den neu-sprachlichen Zweig besuchte. Im Frühjahr 1965 legte ich das Abitur ab.

Seit SS/1965 bin ich an der medizinischen Fakultät der Justus Liebig-Universität in Gießen immatrikuliert. Nach dem SS/1967 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab.

Nach dem SS/1970 werde ich voraussichtlich mein Staatsexamen an der hiesigen medizinischen Fakultät ablegen.

Herrn Prof. Dr. H. A. Kühn danke ich sehr herzlich für die günstigen Arbeitsbedingungen in seinem Labor.

Herrn Dr. E. Richter bin ich für die Überlassung des Themas und für die Hilfe bei der Bearbeitung zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Dr. B. Leinweber danke ich für die Beurteilung der histologischen Befunde.

